

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

med om os giv af det hydro i dextran (c ender hør)

anvender rihol

PATENT 122398

DANMARK

Int. Cl. C 08 b 19/08

KI. 39b¹ 19/08



Ansigning nr. 3415/68 Indleveret den 12. jul. 1968

Lebedag 12. jul. 1968

Fremlagt den 28. feb. 1972

Patent meddelt den 24. jul. 1972 Beskrivelsen stemmer overens
med fremleggelsesskrifter

DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENET.

Prioritet begæret fra den 13. jul. 1967 nr.
P-121667 og nr. P-121668, Polen.

KUTNOWSKIE ZAKLADY FARMACEUTYCZNE "POLFA", Kutno, Polen.

Opfinder: Jan Zbigniew Mioduszewski, Warszawa, 33-99 Anielewicza Street, Polen, Mieczyslawa Helena Mioduszewska, sammesteds, og Andrzej Januariusz Kornacki, Grodzisk Mazowiecki, 3-5 Kościuszki Street, Polen.

Fuldmaetig under sagens behandling:

Ingeniørfirmaet Lehmann & Ree.

Fremgangsmåde til fremstilling af ferrihydroxid-kompleksforbindelser af hydrogeneret dextran.

Opfindelsen angår en fremgangsmåde til fremstilling af ferrihydroxid-kompleksforbindelser af hydrogeneret dextran.

Der kendes allerede præparater med kompleksforbindelser af ferrihydroxid og ikke-hydrogeneret dextran. Disse præparater, der fortrinsvis fremstilles til injektionsbrug, finder udstrakt anvendelse i farmaceutiske midler. Disse forbindelser toxicitet, der almindeligvis udtrykkes ved DL₅₀, udgør ved museprøve ved intravenøs indgivelse ca. 500 til 700 mg for hvert 1 kg af forsøgsdyrenes levende vægt. Sådanne værdier kræves af Pharmakopea USA XVII.

Et yderligere fremskridt på ferrihydroxid-dextran-kompleksforbindelsernes område var fremstillingen af kompleksforbindelser af ferrihydroxid og hydrogeneret dextran. Disse kompleksforbindelser har de samme terapeutiske egenskaber, men kan have en betydelig lavere

toxicitet og er mere stabil i vandige opløsninger. Fremstillingen af disse kompleksforbindelser er dog vanskeligere end fremstilling af kompleksforbindelser med ikke-hydrogeneret dextran, og deres gavnlige egenskaber er forbundet med fremstillingsfremgangsmåden. I beskrivelsen til U.S.A. patent nr. 3.234.209 er der omtalt fremstilling af kompleksforbindelser af ferrihydroxid og hydrogeneret dextran, der har en flere gange lavere toxicitet end kompleksforbindelser af ikke-hydrogeneret dextran eller end kompleksforbindelser af hydrogeneret dextran, der fremstilles ifølge allerede kendte fremgangsmåder (f.eks. ifølge den fremgangsmåde, der er beskrevet i beskrivelsen til U.S.A. patent nr. 3.022.221). Den lavere toxicitet skyldes, som det er anført i beskrivelsen til U.S.A. patent nr. 3.234.209, fremgangsmåden ifølge sidstnævnte U.S.A. patent, og nærmere bestemt det til tilvejebringelse af kompleksdannelsen nødvendige ferrihydroxid, der fremstilles ved delvis neutralisering af en jernsaltopløsning med en ammoniakopløsning og efterfølgende dialyse, og som anvendes i form af en dialyseret kolloidopløsning.

Ifølge beskrivelsen til schweizisk patent nr. 398.882 tilvejebringes en kompleksforbindelse af ferrihydroxid og hydrogeneret dextran ved elektrodialyse af ferrisalte. Ved denne fremgangsmåde befinder opløsningen af det hydrogenerede dextran og ferrisaltene sig under dialysen i katoderummet og en fortyndet natriumchloridopløsning i anoderummet i anlægget. I katoderummet tilvejebringes betingelser til dannelsen af kolloidt ferrihydroxid i nærværelse af hydrogeneret dextran. Samtidig fjernes anionen fra det oprindeligt anvendte ferrisalt. Den ved denne fremgangsmåde opståede blanding danner ved opvarmning en kompleksforbindelse.

Fremgangsmåden ifølge den foreliggende opfindelse er ejendommelig ved, at et udfældet ferrihydroxid, der er vasket fri for elektrolyt og frafiltreret, i fugtig tilstand blandes med tørt hydrogeneret dextran, der har en ifølge Somogyi bestemt reduktionsevne på fra 0,02 til 3 og et grænseviskositetstal bestemt ved 25°C i vandig opløsning på fra 0,01 til 0,2 dl/g, og eventuelt tilsættes der citronsyre eller natriumcitrat i en mængde på op til 10% af den anvendte hydrogenerede dextranmængde til en homogen masse, der gøres alkalisisk med en vandig opløsning af natriumhydroxid og derpå opvarmes under omrøring til temperaturer, der ligger i området 70°C-100°C, indtil produktet opnår fuldstændig vandopløselighed, derefter afkøles, filtreres og behandles ved kationbytning.

Ifølge den foreliggende opfindelse fremstilles det hydrogenerede dextrans ferrihydroxid-kompleksforbindelse med lav toxicitet bety-

deligt enklere og billigere, hvorhos det ikke er nødvendigt at fremstille kolloidt ferrihydroxid som udgangsmateriale. Denne fremgangsmåde kræver intet dialyse- eller elektrodialyseudstyr; fjernelsen af dette reaktionstrin gør det muligt at gennemføre syntesen ved store koncentrationer af de reagerende stoffer, hvilket på den anden side frembyder muligheden for at formindske anlæggets arbejdsrumfang. Dermed falder nødvendigheden af at koncentrere den meget fortyndede oplosning af produktet, der kan forekomme ved andre metoder, bort.

De ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen fremstillede ferrihydroxid-kompleksforbindelser af hydrogeneret dextran har en så ringe toxicitet, at der endog opstår vanskeligheder ved bestemmelse af værdien af DL₅₀. Dosisgrænsen er snarere betinget af det indgivne rumfang af det opløste præparat end af dets toxicitet. De opløsninger af produktet, der er fremstillet til injektionsbrug, udviser efter sterilisering hverken spor af jernioner eller ændringer i dets egenskaber. Det har overraskende vist sig, at komplekse forbindelser med de hensigtsmæssige egenskaber kan fås ved at blande det angivne udfældede, -vaskede og frafiltrerede ferrihydroxid med tørt hydrogeneret dextran med efterfølgende opvarmning af denne blanding i nærværelse af alkali-metalhydroxider, indtil de dannede produkter er fuldstændigt vandopløselige. Produktet kan derefter befries for overskud af tilsat alkali-metalhydroxid ved kationbytningsbehandling. Den ionbytningsbehandlede opløsning kan ved tilslætning af den nødvendige mængde natriumchlorid til tilvejebringelse af en isotonisk opløsning, indstilling af koncentrationen af det virksomme materiale, filtrering, påfyldning af opløsningen i de nødvendige beholdere og efterfølgende termisk sterilisering direkte bringes på injektionsform.

Opløsningen kan endvidere på kendt måde underkastes tekniske behandlinger, ved hvilke vandet fjernes og slutproduktet fås på fast form. Det således tilvejebragte produkt har, når det opløses i vand, de samme egenskaber som den oprindelige opløsning.

En vis ulæmpe ved denne fremgangsmåde skyldes det lange (over 2 timer) opvarmningstidsrum og nødvendigheden af et stærkt alkalisk medium, der er nødvendigt til gennemførelse af kompleksdannelsen. Det har vist sig, at reaktionstidsrummet kan forkortes betydeligt, når der til reaktionsblandingen sættes en hydroxysyre med chelat-egenskaber eller dens natriumsalt. Citronsyre eller dens natriumsalt har vist sig at være hensigtsmæssig som dette stof.

Det har endvidere vist sig, at tilslætningen af et sådant stof ikke alene fremskynder og letter dannelsen af det hydrogenerede dextrans ferrihydroxid-kompleksforbindelser, men også forbedrer det

opnåede produkts egenskaber.

Opløsninger af disse kompleksforbindelser filtreres lettere, de er mere bestandige under opbevaringen og viser ingen tilbøjelighed til dannelses af bundfald i ampuller. De flyder også lettere af glasvæggen i ampullen og injektionssprøjten også ved store koncentrationer. De gunstige terapeutiske egenskaber opnås også i dette tilfælde.

Det er blevet konstateret, at det er væsentligt, at citronsyren eller dens natriumsalt tilsættes reaktionsblandingens før opvarmningen. Dette letter reaktionsblandingens homogenisering og fremskynder den senere indtrædende dannelses af kompleksforbindelsen. På denne måde sker ferrihydroxidets kompleksdannelse med det hydrogenerede dextran lige så let som ved omsætningen med ikke-hydrogeneret dextran, og produktets egenskaber reproduceres lettere.

Det er blevet konstateret, at produktet, der opnås ved tilsætning af sodiumcitrat, ved efterfølgende behandling med kationbytter, sammenlignet med de produkter, der fås uden denne tilsætning, ikke udviser noget større fald i pH-værdi og heller ingen større elektrolytisk ledningsevne. Dette viser, at citronsyren med det hydrogenerede dextran og ferrihydroxidet danner en blandet kompleksforbindelse af en art, der svarer til det kendte blandingskompleks af jern, sorbitol og citronsyre, der allerede finder anvendelse i terapien.

Ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen anvendes hydrogeneret dextran med andre egenskaber end ved de kendte fremgangsmåder.

De ovenfor omtalte gunstige resultater fås ved fremgangsmåden ifølge opfindelsen ved anvendelse af hydrogeneret dextran med en ifølge Somogyi bestemt reduktionsevne, der ligger i området fra 0,02 til 3, idet reduktionsevnen ved omregning er udtrykt i glucose gramækvivalenter i 100 g hydrogeneret dextran. Ifølge den kendte teknik derimod (de ovenfor anførte patentskrifter) kræves der anvendelse af hydrogeneret dextran, overfor hvilken Somogyi reagenset forbliver fuldstændig ureduceret. For, klart at vise denne forskel skal der som eksempel angives, at ikke-hydrogeneret dextran med ca. den samme molekulvægt har en reduktionsevne på ca. 10.

Det dextran, der egner sig til fremstilling af kompleksforbindelser ved hjælp af fremgangsmåden ifølge den foreliggende opfindelse, er uddover reduktionsevnen bestemt ifølge Somogyi også karakteriseret ved grænseviskositetstallet. Grænseviskositetstallet, der bestemmes ved 25°C i vandig opløsning, skal have en værdi i området fra 0,01 til 0,2 dl/g, fortrinsvis fra 0,05 til 0,07 dl/g.

Fremstillingen af det hydrogenerede dextrans ferrihydroxid-kompleksforbindelser sker ifølge opfindelsen på følgende måde:

Under omrøring tilsættes der til opløsningen af et vandopløseligt ferri-salt, fortrinsvis til den vandige opløsning af ferrichlorid, trinvis en alkalimetallcarbonatopløsning. Bundfaldet af ferrihydroxid vaskes fri for elektrolyt med destilleret vand og skiller fra vaskevandet ved dekantering, fortrinsvis til der ikke findes opløste forbindelser i den afdekanterede væske. Bundfaldet fraskilles derefter ved filtrering eller centrifugering og blandes i fugtig tilstand med det tørrede hydrogenerede dextran, der har de allerede angivne egenskaber. Mængde-forholdet mellem ferrihydroxid og hydrogeneret dextran kan variere indenfor et temmeligt bredt område, således at den ønskede mængde jern, beregnet som grundstofform i produktet, udgør fra 5 til 30%. Ved anvendelse af citronsyre eller dens natriumsalt er det hensigtsmæssigt at tilsætte denne til blandingen i en mængde på fra 1 til 10% i forhold til den til reaktionen anvendte hydrogenerede dextranmængde i denne blanding.

Blandingen omrøres, indtil den har opnået en homogen tilstand. Derefter tilsættes et i vand opløst alkalimetallhydroxid, indtil blandingen viser en alkalisk reaktion. Blandingen opvarmes derefter under omrøring. Opvarmningen fortsættes så længe, at produktet er fuldstændig opløseligt i vand. Det tidsrum, der er nødvendigt til reaktionen, udgør i det tilfælde, hvor der ikke tilsættes noget citronsyre eller dens salt, i gennemsnit nogle timer. Ved tilsætning af natriumcitrat udgør reaktionsvarigheden 100-150 minutter.

Den gunstige reaktionstemperatur ligger i området fra 70°C til 100°C .

Fra reaktionsblandingen udtages fra tid til anden en prøve, der opløses i et stort overskud af vand. Så snart prøven er klart opløselig i vand, fortsættes opvarmningen kun i yderligere 10-20 minutter. Derefter afkøles opløsningen, filtreres og behandles med kationbytteren.

De i opløsningen opløste alkalibestanddele fjernes, idet den ledes igennem et på et filter eller i en kolonne anbragt lag af en svag sur kationbytter. Kationbytteren kan også tilsættes opløsningen, der omrøres, og efter et bestemt tidsrum fjernes den ved filtrering eller centrifugering. Opløsningen behandles så længe med ionbytteren, at den har opnået en pH-værdi, der ligger i området fra 5,5 til 6,6. Samtidig aftager opløsningens elektrolytiske ledningsevne, idet det er hensigtsmæssigt at lade denne antage en værdi fra 3×10^{-3} til $1 \times 10^{-4} \text{ Ohm}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ved en temperatur på 20°C .

Af den fremstillede opløsning kan produktet efter filtreringen udvindes på fast form, eller også anvendes direkte på injektionsform.

I førstnævnte tilfælde kan stoffet tørres direkte i en forstøvnings-tørrer. Produktet kan også fraskilles ved afdrivning af opløsningsmidlet i vakuuum eller ved udfældning med et med vand blandbart organisk opløsningsmiddel, såsom en lavere alkohol og acetone. Efter udfældningen er det hensigtsmæssigt til opløsningen af slutproduktet at sætte et overskud af det organiske opløsningsmiddel og at frafiltrere det udfældede slutprodukt og tørre det i vakuuum.

Fremgangsmåden ifølge den foreliggende opfindelse belyses nærmere i de efterfølgende eksempler.

Eksempel 1.

I en glaskolbe, der rummer 4 liter, og som er forsynet med en omrører, blev der anbragt 700 ml af en ferrichloridopløsning med et jernindhold på 15 milligram jern pr. ml, og denne blev afkølet til 12°C . Adskilt herfra blev der tilberedt en opløsning af 33 g vandfri natriumcarbonat i 1500 ml destilleret vand, der blev filtreret og afkølet til 12°C .

Natriumcarbonatopløsningen blev under kraftig omrøring dryppet til ferrichloridopløsningen i løbet af ca. 60 minutter, indtil suspensionen havde opnået en pH-værdi på 5,9. Suspensionen af det udfældede ferrihydroxid blev overført til en glaskolbe, der rummer 6 liter, fortynnet med destilleret vand til ca. 6 liter og fik lov til at henstå til hydroxidet havde bundfaldet sig. Væsken blev afdekanteret, bundfaldet blev igen fortynnet med destilleret vand og igen dekanteret. Denne fremgangsmåde blev fortsat, indtil der ikke kunne fastslås positiv reaktion for chlorioner i den fra dekanterede væske. Bundfaldet af ferrihydroxid blev frafiltreret på et vakuummfilter og derefter i fugtig tilstand blandet med 30 gram tørt hydrogeneret dextran med et grænseviskositetstal på 0,058 dl/g og en ifølge Somogyi bestemt reduktionsevne på 0,029.

Til den homogene blanding sattes der 15 ml af en 10% natriumhydroxidopløsning i destilleret vand og under stadig omrøring opvarmes den fra fra 96°C til 100°C . Efter opvarmning i 60 minutter til-sattes yderligere 7,5 ml 10% natriumhydroxidopløsning, og det på grund af fordampningen opståede vandtab blev udliignet ved påfyldning til det oprindelige rumfang. Den efter 145 minutter udtagne prøve var fuldstændig klar opløselig i vand. Opløsningen opvarmedes yderligere i 10 minutter og fik lov til at stå til afkøling og filtreredes derefter gennem et sinterfilter med porestørrelse G-3. Den filtrerede opløsning blev fire gange ledt gennem en med svagt sur kationbytter forsynet kolonne (70 ml af en suspension af en kationbytter). Såsnart opløsningen havde opnået den elektrolytiske ledningsevne $1,28 \times 10^{-3}$

$\text{Ohm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ og pH-værdien 5,6, blev afmineraliseringen afsluttet.

Eksempel 2.

Ferrihydroxid blev fremstillet på samme måde og i samme mængde som i eksempel 1.

Det frafiltrerede, fugtige bundfald af ferrihydroxid blev blandet grundigt med 36 g hydrogeneret dextran med et grænseviskositets- tal på 0,059 dl/g og en ifølge Somogyi bestemt reduktionsevne på 0,020. Til denne blanding blev der sat 1 g natriumcitrat, det hele blev sammenblandet, derefter blev der tilsat 20 ml 10% natriumhydroxid, og der blev opvarmet under stadig mekanisk omrøring til fra 96°C til 98°C .

Efter 45 minutters forløb blev der udtaget en prøve, der var klar opløselig i vand. Efter 55 minutters forløb blev opvarmningen standset.

Opløsningen blev filtreret, afkølet gennem et glasfilter med pore-størrelse G-3 og blev ledt nogle gange gennem et lag bestående af 70 ml af en svag sur kationbytter på hydrogenionform. Såsnart opløsningen havde nået værdien $1,28 \times 10^{-3} \text{ Ohm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ og en pH-værdi på 5,6, blev afioniseringen standset.

Eksempel 3.

Ferrihydroxid og ferrihydroxid-kompleksforbindelsen med det hydrogenerede dextran blev fremstillet på den i eksempel 2 anførte fremgangsmåde. Dertil blev der anvendt 30 g hydrogeneret dextran med et grænseviskositets- tal på 0,059 dl/g og en ifølge Somogyi bestemt reduktionsevne på 2,8, til hvilket der blev sat 1,5 g natriumcitrat.

Efter afionisering og filtrering af opløsningen blev produktet udvundet som et tørt pulver ved tørring i en forstøvningstørre. Indgangstemperaturen for den til tørring benyttede luft var 130°C , og forstøvningsturbinen havde en hastighed på ca. 45000 omdr./minut. Der blev opnået et brunlig-rødt, let vandopløseligt pulver med et indhold på 28,6% komplekst bundet jern, beregnet som grundstofform i produktet. Det var muligt ud fra dette pulver at fremstille opløsninger med egenskaber, der er identiske med den oprindelige opløsnings.

Eksempel 4.

I en glaskolbe forsynet med omrører og dråbetragt blev der hældt 1400 ml ferrichloridopløsning med et totalt jernindhold på 21,8 g, og denne blev afkølet til 12°C . Til den mekanisk omrørte ferrichloridopløsning blev der i løbet af ca. 50 minutter sat 2500 ml af en til samme temperatur afkølet natriumcarbonatopløsning med faststofindhold

værdien 5,5, blev tildrypningen standset. Bundfaldet blev vasket tre gange med destilleret vand og hver gang skilt fra vaskevandet ved dekantering og dernæst frafiltreret ved hjælp af vakuum. Det fugtige, frafiltrerede bønfald af ferrihydroxid blev blandet grundigt med 84 g hydrogevitaminet dextran med grænseviskositetstallet 0,055 dl/g og en ifølge Somogyi bestemt reduktionsevne på 2,32. Til blandingen blev der først sat 4 g natriumcitrat opløst i 20 ml destilleret vand og derefter 24 ml af en 10% natriumhydroxidopløsning. Blandingen blev opvarmet under mekanisk omrøring i 25 minutter til en temperatur på 75°C, og den blev holdt på denne temperatur i 15 minutter. Derefter blev temperaturen forhøjet trinvis for efter 25 minutters forløb at nå en temperatur på 95°C. En på dette tidspunkt udtaget prøve af produktet var fuldstændig opløseligt i vand. Blandingen blev opvarmet i yderligere 15 minutter ved en temperatur på 98°C og blev derefter henstillet til afkøling.

Efter filtrering blev opløsningen ledt fire gange gennem et lag af 90 ml af en kationbytter, indtil der blev opnået en pH-værdi på 6,0.

P a t e n t k r a v.

Fremgangsmåde til fremstilling af ferrihydroxid-kompleksforbindelser af hydrogeneret dextran, kendte tegnet ved, at et udfældet ferrihydroxid, der er vasket fri for elektrolyt og frafiltreret, i fugtig tilstand blandes med tørt hydrogeneret dextran, der har en ifølge Somogyi bestemt reduktionsevne på fra 0,02 til 3 og et grænseviskositetstal bestemt ved 25°C i vandig opløsning på fra 0,01 til 0,2 dl/g, og eventuelt tilsættes der citronsyre eller natriumcitrat i en mængde på op til 10% af den anvendte hydrogenerede dextranmængde til en homogen masse, der gøres alkalisk med en vandig opløsning af natriumhydroxid, og derpå opvarmes under omrøring til temperaturer, der ligger i området 70°C-100°C, indtil produktet opnår fuldstændig vandopløselighed, derefter afkøles, filtreres og behandles ved kationbytning.

Fremdragne publikationer:
